

# MULTIREZISTENTNE BAKTERIJE

BRANKA BEDENIĆ<sup>1,2</sup>, SANDA SARDELIĆ<sup>3</sup> i MIRNA LADAVAC<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet, <sup>2</sup>Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb,

<sup>3</sup>Klinički bolnički centar Split, Split i <sup>4</sup>Zavod za javno zdravstvo Istarske županije, Pula, Hrvatska

U najvažnije multirezistentne bakterije koje su terapijski problem ubrajamo enterobakterije pozitivne na  $\beta$ -laktamaze proširenog spektra (ESBL), plazmidne AmpC  $\beta$ -laktamaze i karbapenemaze, karbapenemaza pozitivni *Acinetobacter baumannii* i *Pseudomonas aeruginosa*, meticilin-rezistentni *Staphylococcus aureus*, penicilin-rezistentni *Streptococcus pneumoniae* te vankomicin-rezistentni enterokok.  $\beta$ -laktamaze proširenog spektra razgrađuju oksimino cefalosporine i aztreonam, najčešće se pojavljuju u izolatima enterobakterija, a kodirane su na prenosivim plazmidima koji često sadržavaju i gene rezistencije na ne- $\beta$ -laktamske antibiotike. Plazmidne AmpC  $\beta$ -laktamaze su nastale prijenosom kromosomskog ampC gena na plazmid enterobakterija. Te  $\beta$ -laktamaze uzrokuju rezistenciju na peniciline, cefalosporine prve, druge i treće generacije te kombinacije  $\beta$ -laktama i inhibitora  $\beta$ -laktamaza.

Enterobakterije mogu razviti rezistenciju na karbapeneme zbog hiperprodukcije  $\beta$ -laktamaza proširenog spektra ili plazmidnih AmpC  $\beta$ -laktamaza u kombinaciji s gubitkom porina vanjske membrane ili zbog produkcije karbapenemaza iz grupe A (KPC, IMI, NMC, SME), B (metalo- $\beta$ -laktamaza iz VIM, IMP i NDM serije) ili D (OXA-48  $\beta$ -laktamaze). Karbapenemaze koje se nalaze u *Acinetobacter spp.* pripadaju molekularnoj klasi A (KPC), B (VIM, IMP, SIM, NDM) ili D (OXA enzimi). Najčešći mehanizam rezistencije na karbapeneme je produkcija OXA-enzima, ali su često uključeni i drugi mehanizmi, poput gubitka porina vanjske membrane ili pojačane aktivnosti efluks pumpi. Rezistencija na karbapeneme u *P. aeruginosa* nastaje najčešće zbog produkcije metalo- $\beta$ -laktamaza iz VIM, IMP, GIM, SPM i NDM serije, gubitka porina vanjske membrane ili pojačane aktivnosti MexAB ili MexCD pumpi. U *S. aureus* rezistencija na meticilin nastaje zbog stjecanja *mecA* gena koji kodira penicilin vežući protein PBP2a. Ekspresija PBP2a dovodi do rezistencije na sve  $\beta$ -laktame uključujući cefalosporine (s iznimkom ceftarolina ili ceftobiprola) i karbapeneme. Pneumokoki rezistentni na penicilin vrlo su često rezistentni i na cefalosporine te antibiotike iz drugih skupina pa predstavljaju terapijski problem u invazivnim infekcijama. Najvažniji problem u enterokokima je pojava rezistencije na vankomicin.

**Ključne riječi:** multirezistentne bakterije, karbapenemi

**Adresa za dopisivanje:** Prof. dr. sc. Branka Bedenić  
Klinički zavod za kliničku i molekularnu mikrobiologiju  
KBC Zagreb  
Kišpatićeva 12  
10 000 Zagreb, Hrvatska  
Tel: 01 2367 304; faks: 01 2367 393  
E-pošta: branka.bedenic@zg.t-com.hr

U najvažnije multirezistentne bakterije koje su česti uzrok terapijskog neuspjeha u bolesnika sa sepsom ubrajamo enterobakterije pozitivne na  $\beta$ -laktamaze proširenog spektra (ESBL), plazmidne AmpC  $\beta$ -laktamaze i karbapenemaze, karbapenemaza pozitivni *Acinetobacter baumannii* i *Pseudomonas aeruginosa*, meticilin-rezistentni *Staphylococcus aureus*, penicilin-rezistentni pneumokok te vankomicin-rezistentni enterokok.

$\beta$ -laktamaze proširenog spektra razgrađuju oksimino cefalosporine i aztreonam. Prva ESBL bila je SHV-2

$\beta$ -laktamaza opisana u izolatu *K. oxytoca* u Njemačkoj 1983. godine (1). Nakon toga su se ESBL-pozitivne bakterije proširile prvo po Europi, a zatim i po ostalim kontinentima. Najčešće se nalaze među hospitalnim izolatima *Klebsiella pneumoniae* i *Escherichia coli*, a u novije vrijeme i u izvanbolničkih pacijenata (2,3). Dijele se u tri velike porodice: TEM, SHV i CTX-M. TEM i SHV  $\beta$ -laktamaze proširenog spektra se najčešće javljaju u hospitalnim izolatima, dok su CTX-M  $\beta$ -laktamaze češće u izvanbolničkoj populaciji. TEM i SHV  $\beta$ -laktamaze nastaju od parentalnih TEM-1, TEM-2 i SHV-1  $\beta$ -laktamaza mutacijama koje mijenjaju konfi-

guraciju aktivnog središta i šire spektar djelovanja enzima (4). Za razliku od njih CTX-M  $\beta$ -laktamaze su native ESBL, a nastale su od kromosomskih  $\beta$ -laktamaza vrste *Kluyvera ascorbata* i *Kluyvera georgiana* (5). Prva CTX-M  $\beta$ -laktamaza bila je CTX-M-1 opisana u Njemačkoj 1995. godine („cefotaksimase-Munich“). Dije se u pet skupina: CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 i CTX-M-25 (6,7). CTX-M  $\beta$ -laktamaze su dominantan tip ESBL u mnogim zemljama kao što su Švicarska, Austrija, Grčka, Poljska, Japan, Tajvan, Argentina i Kina (7). Postoje i rjeđe vrste  $\beta$ -laktamaza proširenog spektra kao što su PER, VEB i IBC  $\beta$ -laktamaze (2). Geni koji kodiraju ESBL šire se konjugativnim prijenosom plazmida između bakterija iste ili različitih vrsta. Bakterije koje proizvode ESBL su česti uzročnici epidemija hospitalnih infekcija koje se teško kontroliraju i liječe jer su multiplo-rezistentne na većinu antibiotika osim karbapenema pa su oni terapijski izbor (8). Laboratorijska detekcija ESBL čini se pomoću testa sinergije dvaju diskova, a potvrđuju se metodom kombiniranih diskova po CLSI-u. Molekularna karakterizacija ESBL čini se pomoću PCR-a s početnicama specifičnim za TEM, SHV i CTX-M  $\beta$ -laktamaze (2). Prema smjernicama CLSI-a (*Clinical Laboratory Standard Institution; www.clsi.org*) preporučuje se primjena karbapenema u liječenju infekcija uzrokovanih sojevima enterobakterija koje proizvode ESBL, osim ako se ne radi o nekomplikiranim infekcijama urinarnog trakta kada se mogu davati kombinacije beta-laktama i inhibitora  $\beta$ -laktamaza s obzirom da inhibitori postižu vrlo visoke koncentracije u mokraći što onemogućuje razvoj hiperproducerske ESBL. Prema novim preporukama EUCAST-a mogu se koristiti i cefalosporini ako testiranja *in vitro* pokazuju osjetljivost ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)).

Plazmidne AmpC  $\beta$ -laktamaze su nastale prijenosom kromosomskog ampC gena bakterija iz roda *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Morganella*, *Pseudomonas* i *Acinetobacter* na plazmid što omogućuje daljnji prijenos toga gena između bakterija istih ili različitih vrsta. Te  $\beta$ -laktamaze uzrokuju rezistenciju na peniciline, cefalosporine prve, druge i treće generacije te kombinacije penicilina i inhibitora  $\beta$ -laktamaza. Ne djeluju na cefalosporine četvrte generacije i karbapeneme koji se mogu dati u terapiji i invazivnih infekcija (9).

Enterobakterije mogu razviti rezistenciju na karbapeneme zbog hiperprodukcije  $\beta$ -laktamaza proširenog spektra ili plazmidnih ampC  $\beta$ -laktamaza u kombinaciji s gubitkom porina vanjske membrane (10,11) ili zbog produkcije karbapenemaza iz skupine A (KPC, IMI, NMC, SME) (12-15), B (metalo- $\beta$ -laktamaze iz skupine VIM, IMP i NDM) (16-18) i D (OXA-48) (19). Karbapenemaze su enzimi koji razgrađuju karbapeneme (imipenem, meropenem, ertapenem). Karbapenem-rezistentne enterobakterije su do sada opi-

sane u SAD, Izraelu, Grčkoj, Švicarskoj, Njemačkoj, Italiji i Ujedinjenom Kraljevstvu, ali i mnogim drugim zemljama. KPC  $\beta$ -laktamaze su se prvo pojavile i proširile po istočnoj obali sjeverne Amerike, a nakon toga u Izraelu, Grčkoj, Poljskoj, Ujedinjenom Kraljevstvu te nedavno i u većini ostalih europskih zemalja (12). KPC su najznačajnije karbapenemaze iz skupine A, jer su kodirane plazmidno pa imaju potencijal epidemijskog širenja i uzrokuju visoki stupanj rezistencije na karbapeneme. Plazmidi koji ih kodiraju također sadržavaju i gene rezistencije na ostale antibiotike kao što su aminoglikozidi, fluorokinoloni, kloramfenikol, tetraciklini, sulfonamidi i trimetoprim pa su terapijske opcije vrlo ograničene i uključuju najčešće kombinacijsku terapiju – kolistinom (s iznimkom prirodno otpornih bakterija iz rodova *Serratia*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*), tigeciklinom (s izuzetkom urođeno otpornih bakterija iz rodova *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*) u kombinaciji eventualno s meropenomom; ako minimalna inhibicijska koncentracija nije veća od 8  $\mu\text{g/mL}$  i ako se daje u kontinuiranoj infuziji (21). KPC  $\beta$ -laktamaze se najčešće javljaju u izolatima *K. pneumoniae*, ali su opisane i u *E. coli*, *Enterobacter* spp. te rjeđe u ostalim enterobakterijama (12). VIM-pozitivne enterobakterije se najčešće javljaju u Grčkoj, Italiji, Španjolskoj i ostalim mediteranskim zemljama te na Dalekom istoku. (16-18). OXA-48  $\beta$ -laktamaza je dominantna u Turskoj (19), dok NDM pozitivni izolati dominiraju u Indiji i Pakistanu (18, 20).

U Hrvatskoj je do sada opisana rezistencija na karbapeneme u *K. pneumoniae* zbog produkcije NDM metalo- $\beta$ -laktamaze (23) i KPC-2  $\beta$ -laktamaze (24). Detektiraju se u laboratoriju modificiranim Hodge testom i metodom dvostrukog diska s fenilboroničnom kiselinom za detekciju KPC  $\beta$ -laktamaza i EDTA za detekciju metalo- $\beta$ -laktamaza (25-26). Njihova pravodobna detekcija je izvanredno važna kako bi se suzbilo njihovo širenje i nastanak hospitalnih epidemija (27,28).

*Acinetobacter baumannii* obično razvija rezistenciju na karbapeneme zbog produkcije karbapenemaza iz skupine B (VIM; IMP, SIM) ili D (OXA), zbog gubitka porina vanjske membrane (CarO) ili zbog pojačane aktivnosti efluks pumpi (29-31). Najčešći mehanizam rezistencije je produkcija stečenih karbapenem-hidrolizirajućih  $\beta$ -laktamaza koje spadaju u grupe OXA-23, OXA-24/40, OXA-58 i OXA-143 (31-36) i koje uzrokuju visok stupanj rezistencije na karbapeneme. U filogenetskoj skupini OXA-51/69 nalaze se intrinzične oksacilinaze, tj. nativni enzimi vrste *A. baumannii*. One ne uzrokuju rezistenciju na karbapeneme osim ako ne postoji pojačana ekspresija gena *bla*<sub>OXA-51</sub> zbog insercijske sekvence smještene ispred gena (32). OXA  $\beta$ -laktamaze su kodirane na plazmidima i prenosive su s jedne bakterijske stanice na drugu. Izolati *A. bau-*

*mannii* koji proizvode oksacilinaze pokazuju najčešće multiplu rezistenciju na većinu antibiotika uključujući sve  $\beta$ -laktame, aminoglikozide i fluorokinolone pa je najčešće kolistin lijek izbora. Skupina OXA-23 je proširena po čitavom svijetu, OXA-58 u Turskoj, Francuskoj, Grčkoj i Ujedinjenom Kraljevstvu, dok je skupina OXA-24/40 opisana u Španjolskoj, Portugalu, SAD-u, Tajvanu, Kini i Brazilu. Skupina OXA-143 je opisana do sada samo u Njemačkoj (36). Prethodna istraživanja karbapenemske rezistencije u acinetobaktera u Hrvatskoj su utvrdila visoku prevalenciju OXA-72  $\beta$ -laktamaze koja spada u OXA-24/40 grupu u KBC-Zagreb i KBC-u Split (37-38).

Rezistencija na karbapeneme u *P. aeruginosa* nastaje najčešće zbog produkcije metalo- $\beta$ -laktamaza, gubitka OprD porina vanjske membrane ili efliksa (39). Najvažniji mehanizam rezistencije je produkcija metalo  $\beta$ -laktamaza iz skupine B (VIM, IMP, GIM, SPM i NDM) koje uzrokuju visoki stupanj rezistencije na sve karbapeneme bez sudjelovanja drugih mehanizama rezistencije (40). One trebaju cink kao kofaktor pa se zato nazivaju metalo  $\beta$ -laktamaze. Inhibirane su kelatorima metalnih iona kao što su EDTA, merkaptosumporna i merkaptopropionska kiselina, koji se ne koriste u terapiji (41). IMP porodica MBL je proširena u Aziji. Prva  $\beta$ -laktamaza iz te porodice bila je IMP-1 opisana 1992. u Japanu u izolatu *P. aeruginosa* (42). Do danas je opisano preko 20 alelskih varijanti IMP metalo- $\beta$ -laktamaza. VIM porodica je proširena u Europi, posebno u Mediteranskim zemljama i na Dalekom istoku. Postoji preko 34 alelske varijante. Prva VIM metalo- $\beta$ -laktamaza opisana je u izolatu *P. aeruginosa* iz Verone 1997. godine i dolazi od riječi Verona imipenemase (43). Metallo- $\beta$ -laktamaze najčešće proizvode izolati *P. aeruginosa* i *A. baumannii*, ali se susreću, zasada dosta rijetko i u enterobakterija. Geni koji kodiraju te  $\beta$ -laktamaze locirani su na prenosivim genetskim elementima kao što su integroni i zbog toga mogu nastati bolničke epidemije koje je teško suzbiti. Metallo- $\beta$ -laktamaze uzrokuju rezistenciju na sve karbapeneme i cefalosporine, ali ne djeluju na aztreonam. Geni koji kodiraju rezistenciju na aminoglikozide se često nalaze na istom integronu kao i geni za metalo  $\beta$ -laktamaze pa je kod takvih izolata obično prisutna multipla rezistencija na većinu antibiotika osim kolistina. U nas je utvrđena produkcija VIM-2 metalo- $\beta$ -laktamaze u izolatima *P. aeruginosa* iz KBC-a Split i Zagreb (44,45).

Meticilin-rezistentni sojevi *Staphylococcus aureus* (MRSA) su se pojavili u kliničkoj praksi vrlo brzo nakon uvođenja meticilina u liječenje stafilokoknih infekcija ranih 60-ih godina prošlog stoljeća. Danas oko 30-50 % izolata *S. aureus* pokazuju rezistenciju na meticilin i preko 50 % izolata koagulaza-negativnih stafilokoka. Rezistencija nastaje zbog stjecanja *mecA* gena koji kodira penicilin vežući protein PBP2a i *mecC* gena

koji je nova varijanta opisana nedavno u Francuskoj. Ekspresija PBP2a uzrokuje rezistenciju na sve  $\beta$ -laktamske antibiotike uključujući cefalosporine (osim cefotobiprola i ceftarolina) i karbapeneme (46). S vremenom su MRSA postali veliki terapijski problem, i to ne zbog veće patogenosti; terapija vankomicinom, zasada najčešćim antibiotikom izbora, sve se češće povezuje s većom učestalošću recidiva, većom smrtnošću, sporom baktericidnom aktivnosti, utjecajem minimalne inhibicijske koncentracije na postizavanje dovoljne plazmatske koncentracije lijeka (tzv. „tough“ koncentracija ili koncentracija prije sljedeće doze), kao i s pojavom vankomicin-intermedijarnog *S. aureus* (VISA), heterorezistentnog vankomicin-intermedijarnog *S. aureus* (hVISA) i vankomicin-rezistentnog *S. aureus* (VRSA) (47). Kao alternativne terapijske mogućnosti spominju se linezolid, daptomicin, tigeciklin te noviji cefalosporini koji se vežu na modificirani PBP2a – ceftarolin i ceftobiprol. Prevalencija MRSA u Hrvatskoj je od 3 % do 50 %, ovisno o centru, ali se u svijetu sve češće pojavljuje i kao izvanbolnički patogen (48).

Invazivne pneumokokne infekcije, poput bakterijemije i meningitisa, postale su terapijski problem pojavom sve većeg broja pneumokoka rezistentnog na penicilin (PRSP), ali vrlo često i na druge klase antibiotika poput cefalosporina (promjenom PBP-a); makrolida (posredstvom efliksnih pumpi); kinolona (zbog promjene propusnosti, efliksnih pumpi), kloramfenikola (zbog inaktivirajućeg enzima); i kotrimoksazola. Uspješni rezistentni klonovi, poput 23F (PMEN1; Španjolski klon) i 19F šire se u cijelom svijetu. Izolat smanjene osjetljivosti na penicilin ima MIK veći od 0,06  $\mu$ g/mL. Terapijske opcije uključuju za multirezistentne invazivne izolate vankomicin (za alergične bolesnike linezolid); te meropenem s ceftriaksonom (za infekcije koje uključuju CNS) (49).

Enterokoki su normalna flora probavnog i urogenitalnog sustava. Uzrokuju oportunističke infekcije urinarnog trakta, rana, intraabdominalne apscese i sepsu. Imaju urođenu rezistenciju na mnoge antibiotike kao što su cefalosporini i klindamicin (50). Da bi se postigao baktericidni učinak neophodan za liječenje teških infekcija kao što je sepsa i endokarditis potrebno je kombinirati inhibitore sinteze staničnog zida kao što su penicilini ili glikopeptidi s aminoglikozidima da bi se postigao sinergistički učinak. Dolazi u obzir i kiruško odstranjenje ili reparacija valvula. Veliki terapijski problem je rezistencija na peniciline, aminoglikozide i u novije vrijeme na vankomicin. Prvi VRE (vankomicin-rezistentni enterokok) soj je opisan u Europi 1988. godine. Danas prevalencija VRE iznosi oko 2 % u Europi, oko 10 % u SAD. Infekcije uzrokovane sojevima VRE se teško liječe; terapijski izbor su linezolid, tigeciklin, daptomicin i kvinupristin-dalfopristin (samo za *E. faecium*) (51,52).



U zaključku je važno naglasiti da su multirezistentne bakterije veliki izazov kliničarima zbog vrlo limitiranih terapijskih opcija. Poseban je problem u novije vrijeme rezistencija na karbapeneme u gram-negativnih bakterija, a također zabrinjava i pojava rezistencije na kolistin u acinetobaktera te enterobakterija u najnovije vrijeme. Takvi izolati su u pravilu „*pan-drug-resistant*“ što znači da ne postoji niti jedan učinkoviti antibiotik. Nije izgledno da će se u skorijoj budućnosti pojaviti nove skupine antibiotika koje bi imale učinak na takve izolate i zato je važno čuvati učinkovitost postojećih antibiotika racionalnom primjenom i suzbijanjem širenja multirezistentnih sojeva primjenom mjera bolničke higijene.

## L I T E R A T U R A

1. Rahal J. Extended spectrum  $\beta$ -lactamases: how big is the problem? Clin Microbiol Infect 2000; 6(Suppl 2):2-6.
2. Bradford PA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. Clin Microbiol Rev 2001; 14: 933-51.
3. Pitout JD, Nordmann P, Laupland KB, Poirel L. Emergence of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the community. J Antimicrob Chemother 2005; 56: 52-9.
4. Bradford PA. What's new in  $\beta$ -lactamases? Curr Infect Dis Resp 2001; 3: 13-9.
5. Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new  $\beta$ -lactamases. N Engl J Med 2005; 352: 380-92.
6. Rossolini GM., D'Andrea MM, Mugnaioli C. The spread of CTX-M-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. Clin Microbiol Infect 2008; 14(Suppl.1): 33-41.
7. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: the CTX-M enzymes. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 1-14.
8. Essack SY. Treatment options for extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producers. FEMS Microbiol Lett 2000; 190: 181-4.
9. Jacoby GA. AmpC  $\beta$ -lactamases. Clin Microbiol Rev 2009; 22: 161-82.
10. Segal H, Elisha BG. Resistance to  $\beta$ -lactams, and reduced susceptibility to carbapenems, in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* due to interplay between CTX-M 15 and altered outer membrane permeability. S Afr J Epidemiol Infect 2006; 21: 41-4.
11. Elliot E, Brink AJ, Van Greune J i sur. In vivo development of ertapenem resistance in a patient with pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* with an extended-spectrum  $\beta$ -lactamase. Clin Infect Dis 2006; 42: 95-8.
12. Yigit H, Quennan AM, Anderson GJ i sur. Novel carbapenem-hydrolyzing  $\beta$ -lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 1151-61.
13. Naas T, Vandell W, Sougakoff W, Livermore DM, Nordmann P. Cloning and sequence analysis of the gene for carbapenem hydrolyzing class A  $\beta$ -lactamase, Sme-1 from *Serratia marcescens* S6. Antimicrob Agents Chemother 1994; 38: 1262-70.
14. Nordmann P, Mariotte S, Naas T, Labia R, Nicolas MH. Biochemical properties of a carbapenem-hydrolyzing  $\beta$ -lactamase of *Enterobacter cloacae* and cloning of the gene into *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother 1993; 37: 939-46.
15. Prottumarthy S, Moland ES, Jeretschko S, Swanzy R, Thomson KS, Fritsche TR. NMC-A carbapenem-hydrolyzing enzyme in *Enterobacter cloacae* in North America. Emerg Infect Dis 2003; 9: 999-1002.
16. Yan JJ, Ko WCK, Chuang C, Wu JJ. Metallo  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in a university hospital in Taiwan: prevalence of IMP-8 *Enterobacter cloacae* and first identification of VIM-2 in *Citrobacter freundii*. J Antimicrob Chemother 2002; 50: 503-11.
17. Galani I, Souli M, Chrysosouli Z, Orlandou K, Giama-rellou H. Characterization of a new integron containing *bla*<sub>VIM-1</sub> and *aac*(6')-IIc in an *Enterobacter cloacae* clinical isolate from Greece. J Antimicrob Chemother 2005; 55: 634-38.
18. Yong D, Toleman MA, Giske CG i sur. Characterization of a new metallo- $\beta$ -lactamase gene, *bla*<sub>NDM-1</sub>, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. Antimicrob Agents Chemother 2009; 53: 5046-54.
19. Gulmez D, Woodford N, Palepou MF i sur. Carbapenem resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48 like carbapenemase and outer membrane protein loss. Int J Antimicrob Agents 2008; 31: 523-6.
20. Poirel L, Dortet L, Bernabeu S, Nordmann P. Genetic features of *bla*<sub>NDM-1</sub>-Positive *Enterobacteriaceae*. Antimicrob Agents Chemother 2011; 55: 5403-7.
21. Levy-Hara, Gould I, Endimiani A i sur. Detection, treatment and prevention of carbapenemase. - producing *Enterobacteriaceae*: recommendations from an International Working Group. J Chemother 2013; 25: 129-40.
22. Cattoir V, Nordmann P. Plasmid-mediated quinolone resistance in gram-negative bacterial species: an update. Curr Med Chem 2009; 16: 1028-46.
23. Mazzariol A, Bošnjak Z, Ballarini P i sur. NDM-1 producing *Klebsiella pneumoniae*, Croatia. Emerg Infect Dis 2012; 18: 532-4.
24. Bedenić B, Mazzariol A, Plečko V i sur. First report of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in Croatia. J Chemother 2012; 24: 237-9.
25. Nordmann P, Poirel L. Strategies for identification of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. J Antimicrob Chemother 2013; 68: 487-9.
26. Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V, and the European Network on

- Carbapenemases. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Clin Microbiol Infect 2012; 18: 432-8.
27. Canton R, Akova M, Carmeli Y i sur. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. Clin Microbiol Infect 2012; 18: 413-31.
28. Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis 2012; 18: 1503-7.
29. Bergogne-Berenzin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogen: microbiological, clinical and epidemiologic features. Clin Microbiol Rev 1996; 9: 148-65.
30. Brown S, Amyes S. OXA  $\beta$ -lactamase in *Acinetobacter*: the story so far. J Antimicrob Chemother 2006; 57: 1-3.
31. Rasmussen JW, Hoiby N. OXA-type carbapenemases. J Antimicrob Chemother 2006; 57: 373-83.
32. Turton JE, Ward ME, Woodford N i sur. The role of ISAbal1 in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. FEMS Microbiol Lett 2006; 258: 72-7.
33. Stoeva T, Higgins P, Bojkova K, Seifert H. Clonal spread of carbapenem-resistant OXA-23-positive *Acinetobacter baumannii* in a Bulgarian university hospital. Clin Microbiol Infect 2008; 14: 723-6.
34. Bou G, Oliver A, Martinez-Beltran J. OXA-24, a novel class D  $\beta$ -lactamase with carbapenemase activity in an *Acinetobacter baumannii* clinical strain. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 1556-61.
35. Pournas S, Markogiannakis A, Ikonomidis A i sur. Outbreak of multiple clones of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates expressing OXA-58 carbapenemase in an intensive care unit. J Antimicrob Chemother 2006; 57: 557-61.
36. Higgins P, Poirel L, Lehmann M, Nordmann P, Seifert H. OXA-143, a novel carbapenem-hydrolyzing class D  $\beta$ -lactamase in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2009; 53: 5035-8.
37. Goić-Barišić I, Towner, KJ, Kovačić A i sur. Outbreak in Croatia caused by a new carbapenem-resistant clone of *Acinetobacter baumannii* producing OXA-72 carbapenemase. J Hospit Infect 2011; 77: 368-9.
38. Franolić-Kukina I, Bedenić B, Budimir A, Herljević Z, Vraneš J, Higgins P. Clonal spread of carbapenem-resistant OXA-72 positive *Acinetobacter baumannii* in a Croatian University Hospital. Int J Infect Dis 2011; 15 :e706-e709.
39. Nordmann P, Poirel L. Emerginig carbapenemases in Gram-negative aerobes. Clin Microbiol Infect 2002; 8: 321-31.
40. Livermore DM, Woodford N. The  $\beta$ -lactamase threat in Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. Trends in Microbiol 2006; 14: 413-20.
41. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo- $\beta$ -lactamases: the quiet before the storm. Clin Microbiol Rev 2005; 18: 306-25.
42. Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, Mitsuhashi S. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35: 147-51.
43. Lauretti L, Riccio ML, Mazzariol A i sur. Cloning and characterization of bla<sub>VIM</sub>, a new integron-borne metallo-  $\beta$ -lactamase gene from *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 1584-90.
44. Sardelić S, Pallechi L, Punda-Polić V, Rossolini GM. Carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa*-carrying VIM-2 metallo- $\beta$ -lactamase determinants, Croatia. Emerg Infect Dis 2003; 9: 1022-3.
45. Bošnjak Z, Bedenić B, Mazzariol A, Jarža-Davila N, Šuto S, Kalenić S. VIM-2  $\beta$ -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Zagreb, Croatia. Scand J Infect Dis 2010; 42: 193-7.
46. Lauren F, Chardon H, Haenni M i sur. MRSA harboring mecA variant gene mecC, France. Emerg Infect Dis 2012; 18: 1465-7.
47. Howden BP, Davies JK, Johnson PDR, Stinear TP, Grayson ML. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. Clin Microbiol Rev 2010; 23: 99-139.
48. Budimir A, Plečko V, Presečki-Stanko A, Tripković V, Rebrović B, Kalenić S. Brza identifikacija metiliclin-rezistentnih sojeva *Staphylococcus aureus* (MRSA). Lijec Vjesn 2003; 125: 159-60.
49. Wyres KL, Lambertsen LM, Croucher NJ i sur. The multidrug-resistant PMEN1 pneumococcus is a paradigm for genetic success. Gen Biol 2012; 13: R103.
50. Leclercq R, Courvaal P. Resistance to glycopeptides in enterococci. Clin Infect Dis 1997; 24: 545-6.
51. McDonald LC, Kuehnert MJ, Tenover FC, Jarvis WR. Vancomycin-resistant enterococci outside the health care setting: prevalence, sources and public health implications. Emerg Infect Dis 1997; 3: 311-7.
52. Nelso RRS, McGregor KF, Brown AR, Amyes SG, Young H. Isolation and characterization of glycopeptide resistant enterococci from hospitalized patients over a 30-month period. J Clin Microbiol 2000; 38: 2112-216.

## SUMMARY

### MULTIRESISTANT BACTERIA

B. BEDENIĆ<sup>1,2</sup>, S. SARDELIĆ<sup>3</sup> and M. LADAVAC<sup>4</sup>

<sup>1</sup>University of Zagreb, School of Medicine, <sup>2</sup>Zagreb University Hospital Center, Zagreb,

<sup>3</sup>Split University Hospital Center, Split and <sup>4</sup>Institute of Public Health of the Istria County, Pula, Croatia

The most important multiresistant bacteria causing treatment failures are extended-spectrum  $\beta$ -lactamase and/or plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamase positive Enterobacteriaceae, carbapenemase producing *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas (P.) aeruginosa*, methicillin-resistant *Staphylococcus (S.) aureus*, penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*, and vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases hydrolyze oxyimino-cephalosporins and aztreonam, are mostly produced by Enterobacteriaceae, and are encoded on transferable plasmids which often contain resistance genes to non- $\beta$ -lactam antibiotics. Plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamases descend from the chromosomal *ampC* gene transferred to the plasmid. Those  $\beta$ -lactamases confer resistance to first, second and third generation of cephalosporins, monobactams, and to  $\beta$ -lactam- $\beta$ -lactamase inhibitor combinations. Enterobacteriaceae may develop resistance to carbapenems due to the hyperproduction of ESBLs or plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamases in combination with porin loss or due to the production of carbapenemases of class A (KPC, IMI, NMC, SME), B (metallo- $\beta$ -lactamases from VIM, IMP or NDM series), and D (OXA-48  $\beta$ -lactamase). Carbapenemases found in *Acinetobacter* spp. belong to molecular class A (KPC), B (metallo- $\beta$ -lactamases of IMP, VIM, NDM or SIM family) and D (OXA enzymes). The most frequent mechanism of carbapenem resistance in *Acinetobacter* spp. is through the production of OXA-enzymes but other various mechanisms including decreased permeability and efflux pump overexpression could also be involved. Carbapenem-resistance in *P. aeruginosa* is usually mediated by the production of metallo- $\beta$ -lactamases of IMP, VIM, GIM, SPM or NDM series, loss of OprD outer membrane protein and/or upregulation of MexAB or MexCD efflux pumps. Methicillin-resistance in *S. aureus* occurs as the result of the acquisition of *mecA* gene that encodes novel PBP2a protein. Expression of PBP2a renders bacteria resistant to all  $\beta$ -lactams including cephalosporins (with the exception of ceftaroline and ceftobiprole) and carbapenems. Most strains of penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae* are often resistant to cephalosporins and antibiotics from other classes, presenting a serious problem in treating invasive infections. The most important therapeutic problem in enterococci is development of resistance to vancomycin.

**Key words:** multiresistant bacteria, carbapenems